



**PATOGENISITAS ISOLAT K14 YANG DIISOLASI DARI  
LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG BERASAL DARI DEMAK**

Pathogenicity of Isolated K14 from Catfish (*Clarias gariepinus*) from Demak

Ayu Wulandari, Slamet Budi Prayitno\*, Sarjito  
Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang - 50275

**ABSTRAK**

Budidaya lele (*Clarias gariepinus*) berkembang pesat dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Ikan lele dapat dibudidayakan di lahan dan sumber air terbatas serta padat penebaran tinggi. Pertumbuhan ikan lele cepat dan pemasaran mudah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat patogenisitas dan leukosit total ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang telah diinfeksi Isolat bakteri K14 dengan kepadatan yang berbeda serta identifikasi Isolat bakteri K14 pada lele dumbo secara biomolekuler berbasis PCR 16S rDNA. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Ikan uji yang digunakan adalah ikan lele dumbo sebanyak 210 ekor dengan ukuran  $8.02 \pm 0.6$  cm. Kepadatan Isolat bakteri K14 yang digunakan dalam penelitian adalah perlakuan (A)  $10^0$  CFU/mL, perlakuan (B)  $10^4$  CFU/mL, perlakuan (C)  $10^5$  CFU/mL, perlakuan (D)  $10^6$  CFU/mL, perlakuan (E)  $10^7$  CFU/mL, perlakuan (F)  $10^8$  CFU/mL, dan perlakuan (G)  $10^9$  CFU/mL. Pengamatan gejala klinis dilakukan selama 96 jam dan pengamatan leukosit total dilakukan setiap 24 jam sekali selama 6 hari. Hasil penelusuran sekuens 16S rDNA menggunakan internet melalui sistem BLAST. Hasil pengamatan gejala klinis lele dumbo yang diinfeksi Isolat bakteri K14 adalah ikan berenang lemah di dasar air, berenang vertikal, nafsu makan berkurang, kulit mengelupas, *haemorrhagic* pada tubuh, kemudian timbulnya radang kemudian menjadi luka yang terbuka (*ulcer*). Kematian ikan tertinggi terlihat pada perlakuan F ( $10^8$  CFU/mL) dan G ( $10^9$  CFU/mL) yaitu 30 ekor, kemudian perlakuan E ( $10^7$  CFU/mL) sebesar 24 ekor, perlakuan D ( $10^6$  CFU/mL) sebesar 23 ekor, perlakuan C ( $10^5$  CFU/mL) sebesar 22 ekor, dan kematian ikan paling sedikit dialami pada perlakuan B ( $10^4$  CFU/mL) sebesar 2 ekor. Nilai  $LD_{50}$  dalam uji patogenisitas menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri yang dapat mematikan 50% populasi ikan lele dumbo dalam waktu 96 jam adalah  $4.977 \times 10^5$  CFU/mL. Jumlah leukosit total tertinggi setelah 24 jam penyuntikan Isolat bakteri K14 pada perlakuan G adalah  $3.41 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup> dan terendah pada perlakuan A sebanyak  $1.57 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Hasil penelusuran berdasarkan 16S rDNA menggunakan sistem BLAST diperoleh bahwa homogenitas sebesar 96% terhadap *Aeromonas* sp.

**Kata Kunci :** Lele Dumbo (*C. gariepinus*), Leukosit Total, Patogenisitas

**ABSTRACT**

Catfish farming have high value and high demand because a catfish can grow in limited water resources with high density. Catfish growth fast and easy to sell them. The purpose of this research was to determine the level of pathogenicity of K14 isolate to catfish (*C. gariepinus*) that have inframicroscopically isolated K14 isolate at different densities and then biomolecularly identified based on PCR 16S rDNA. This research used experimental method. The fish sample was used catfish with  $8.02 \pm 0.6$  cm length. The density of bacteria used in this research were (A) PBS, (B)  $10^4$  CFU/mL, (C)  $10^5$  CFU/mL, (D)  $10^6$  CFU/mL, (E)  $10^7$  CFU/mL, (F)  $10^8$  CFU/mL, (G)  $10^9$  CFU/mL. The observation of clinical signs carried out for 96 hours and total leukocytes were observed every 24 hours for 6 days. 16S rDNA sequences of K14 isolate was analyzed by the BLAST system. The clinical sign of catfish that infected by K14 isolates obtained that fish showed swimming weakly, found till vertically, poor appetite, skin peeling, *haemorrhagic* then followed by the inflammation and ulcer. The highest fish mortality was seen in the treatments F ( $10^8$  CFU/mL) and G ( $10^9$  CFU/mL) by 30 animals, E ( $10^7$  CFU/mL) treatments 24 animal, D treatment  $10^6$  CFU/mL was valued 23 animals, C treatment  $10^5$  CFU/mL was 22 animals and B treatment  $10^4$  CFU/mL was 2 animals respectively.  $LD_{50}$  value of K14 demonstrated that the concentration of  $10^5$  CFU/mL has able to kill 50% of treated catfish within 96 hours. The highest total leukocytes after 24 hours injection of K14 isolate was found in the G treatment valued  $3.41 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup> and the lowest found in A treatment at  $1.57 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup>. Reidentification of K14 isolate using molecular approach 16S rDNA then presented the sequence against existing gen bank by BLAST system indicated that genetically the K14 isolate closes 96% to *Aeromonas* sp.

**Keywords :** Catfish, Leukocytes Total, Pathogenicity

\*Corresponding author : slametbudiprayitno@gmail.com



## PENDAHULUAN

Budidaya ikan lele (*Clarias gariepinus*) berkembang pesat dikarenakan lele dumbo mempunyai kelebihan, dapat dibudidayakan di lahan dan sumber air terbatas dengan padat penebaran tinggi, mempunyai pertumbuhan yang cepat, teknologi budidaya mudah dikuasai oleh masyarakat, pemasarannya mudah dan modal untuk usaha yang dibutuhkan relatif rendah sehingga mempunyai nilai ekonomis yang tinggi (Kementrian kelautan dan Perikanan 2013).

Bakteri genus *Aeromonas* bersifat patogen dan sangat berbahaya pada budidaya intensif ikan jenis salmonid (Austin dan Austin, 2007). Emmerich dan Weibel menemukan bakteri *A. salmonicida* (sebelumnya disebut dengan *Bacillus salmonicida* atau *Bacterium salmonicida* atau *Bacterium trutta*) pada ikan trout di sejumlah hatchery di Jerman pada tahun 1894 (Cipriano dan Bullock, 2001). Infeksi *A. salmonicida* menyebabkan pembengkakan dan haemoragik di antara jaringan epidermis dan dermis. Zona pembengkakan berwarna merah yang secara bertahap dapat meluas. Kerusakan jaringan terjadi adanya *ulcer* pada permukaan tubuh, lebih sering menyerang pada sisi lambung (Austin dan Austin, 2007).

Darah ikan tersusun atas cairan plasma dan sel-sel darah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan keping darah (trombosit). Darah akan mengalami perubahan komposisi, terutama apabila terkena infeksi. Gangguan di dalam tubuh ikan diperlihatkan oleh adanya perubahan pada gambaran darah, seperti nilai hematokrit, konsentrasi hemoglobin, jumlah sel darah putih dan jumlah sel darah merah. Persentase volume kandungan sel eritrosit merupakan petunjuk kondisi kesehatan ikan, sedangkan total leukosit merupakan salah satu indikasi adanya fase pertama infeksi, stres, maupun leukimia (Affandi dan Tang, 2002).

Identifikasi bakteri biasa dilakukan berdasarkan pengamatan morfologis, fisiologis, dan uji biokimia. Menurut Sarjito (2010), karakterisasi bakteri yang didasarkan pada penampakan morfologi, fisiologi, dan uji biokimia hasilnya kurang stabil, kurang seragam dan sangat dipengaruhi penilaian subyektif. Hal ini mengakibatkan jumlah strain bakteri yang diperoleh biasanya sangat kecil sekali dibandingkan dengan keragaman bakteri yang sebenarnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat patogenisitas dan identifikasi Isolat bakteri K14 pada lele dumbo secara biomolekuler berbasis PCR 16S rDNA serta mengetahui total leukosit ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang telah diinfeksi Isolat bakteri K14 dengan kepadatan yang berbeda. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro pada bulan Mei – September 2013, dan untuk identifikasi biomolekuler dikirim ke Macrogen, Korea.

## METODE PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sehat sebanyak 210 ekor dengan ukuran  $8,02 \text{ cm} \pm 0,6$  yang diperoleh dari Demak. Lele dumbo dipelihara dalam 21 akuarium dengan jumlah ikan lele 10 ekor/akuarium dengan volume air 10 liter. Penelitian ini menggunakan bakteri dengan kode Isolat K14 yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yang merupakan hasil isolasi penyakit bakterial pada ikan lele dumbo dari Kabupaten Kendal, Jawa Tengah. Sebelum digunakan, bakteri dengan kode Isolat K14 diganaskan terlebih dahulu (*pasase*).

Pasase ini dilakukan sebanyak 3 kali, dengan cara mengisolasi ulang dari ikan yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14. Mengacu metode Rahman (2008), sebelum dilakukan penyuntikan bakteri telah dikultur ulang pada media miring (TSA) setelah itu pindah pada media cair (TSB) kemudian *vortex* dilakukan untuk menghomogenkan antara media dengan bakteri. Kemudian *seccer* media cair yang berisi bakteri selama 2 hari agar pertumbuhan bakteri merata. Setelah 2 hari, media di ambil dan dimasukkan dalam *sentrifuge* untuk memisahkan antar media dan bakteri sehingga bakteri membentuk seperti gumpalan. Setelah *sentrifuge* kemudian dilakukan pencucian dengan menggunakan larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) pencucian dilakukan sebanyak 2 kali.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium, dimana metode eksperimental merupakan suatu usaha terencana untuk menguatkan teori baru bahkan membantah hasil-hasil penelitian yang telah ada (Srigandono, 1981). Metode eksperimental dicirikan dengan adanya kontrol dan perlakuan terhadap variabel-variabel tertentu. Cara memperoleh data adalah dengan melakukan pengamatan dan mencatat secara langsung data dari hasil pengamatan (Hadi, 1986).

Isolat bakteri K14 tersebut dikultur pada media TSB, kemudian diinkubasi pada suhu  $22^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Bakteri dipanen dan dilakukan pencucian dengan menggunakan PBS. Setelah pemanenan bakteri, kemudian penentuan kepadatan bakteri menggunakan standar *McFarland* yang digunakan sebagai acuan.

Uji patogenisitas dilakukan pada ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) menggunakan bakteri dengan kode Isolat K14. Uji ini untuk mengetahui patogenesitas dan  $\text{LD}_{50}$  dari Isolat K14. Isolat K14 dikultur pada medium NA pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Kepadatan bakteri diukur dengan metode *Mc Farland* sebagai standar. Kemudian bakteri diencerkan untuk mendapatkan kepadatan injeksi  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  dan  $10^9$  sel/ikan yang diberikan secara injeksi intramuskular.



Sebelum dilakukan penyuntikan, ikan dipingsankan dengan menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1 mL/ 20L. Pengamatan kematian ikan dilakukan selama 96 jam dengan interval waktu pengamatan 6 jam. Penentuan waktu 96 jam didasarkan atas pengujian waktu yang umum digunakan untuk bioassay skala pendek dan uji LD<sub>50</sub> dilakukan selama 96 jam.

LD<sub>50</sub> ditentukan menggunakan metode Sarjito (2010), dengan perhitungan sebagai berikut :

$$m = Xi + d \frac{50 - \%Xi}{\%xi + 1 - \%xi}$$

Keterangan :

m : log LD<sub>50</sub>

X<sub>i</sub> : log dosis bakteri di bawah LD<sub>50</sub>

d : selisih log dosis di bawah LD<sub>50</sub> dan di atas LD<sub>50</sub>

%xi : presentase kematian kumulatif pada dosis di bawah LD50

Xi+1 : presentase kematian kumulatif pada dosis di atas LD50

Uji LD<sub>50</sub> dilakukan pada ember bervolume 10L. Kepadatan bakteri yang akan diberikan adalah sebagai berikut:

- A : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>0</sup> CFU/mL (PBS).
- B : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>4</sup> CFU/mL.
- C : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>5</sup> CFU/mL.
- D : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>6</sup> CFU/mL.
- E : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>7</sup> CFU/mL.
- F : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>8</sup> CFU/mL.
- G : Ikan Lele yang diinfeksi bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan 10<sup>9</sup> CFU/mL.

Metode perhitungan total leukosit oleh Svobodova dan Vyukusova (1991) yaitu darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna putih sampai skala 0,5. Lalu ditambahkan larutan *Turk's* (berfungsi untuk mematikan sel-sel darah merah) sampai skala 11, pengadukan darah di dalam pipet dilakukan dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3–5 menit sampai darah tercampur rata. Tetesan pertama larutan darah dalam pipet dibuang, selanjutnya larutan diteteskan pada *haemocytometer* tipe Neubauer kemudian ditutup dengan *cover glass*. Jumlah sel darah putih dihitung dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400x. Jumlah leukosit total dihitung sebanyak 5 kotak dan jumlahnya dihitung dengan rumus:

$$\text{Total leukosit} = \text{jumlah sel terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3.$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengamatan mengenai gejala klinis ikan lele dumbo yang diinfeksi Isolat bakteri K14 menunjukkan bahwa gejala klinis pada saat setelah penyuntikan pada semua perlakuan ikan berenang aktif dan nafsu makan normal, gejala klinis mulai terlihat pada semua perlakuan setelah 6 jam pasca infeksi. Pada perlakuan B gejala klinis yang timbul ditandai dengan luka memar bekas suntikan dan geripis pada sirip mulai terlihat pada jam ke-12 sampai jam ke-96 pasca infeksi, kemudian pada perlakuan C dan D gejala klinis yang muncul nafsu makan berkurang, berenang tidak normal (lemah didasar dan vertikal) gripis pada sirip, sungut lepas, kulit mengelupas pada jam ke-6 sampai jam ke-96 pasca infeksi, sedangkan pada perlakuan E gejala klinis yang muncul meliputi nafsu makan berkurang, berenang tidak normal (lemah didasar dan vertikal), gripis pada sirip, sungut lepas, kulit mengelupas pada jam ke-6 sampai jam ke-24, dan pada jam ke-30 sampai jam ke-96 disusul dengan munculnya Ulcer (luka terbuka pada bekas suntikan) dan *haemoragi* (*pecahnya pembuluh darah*). Pada perlakuan F dan G gejala klinis yang muncul meliputi nafsu makan berkurang, berenang tidak normal (lemah didasar dan vertikal), gripis pada sirip, sungut lepas, kulit mengelupas pada jam ke-6, kemudian pada jam ke-12 sampai jam ke-96 disusul dengan munculnya ulcer dan *haemoragi*. Berdasarkan hasil gejala klinis yang diperoleh menunjukkan bahwa berdasarkan gejala klinis mencirikan infeksi bakteri *A. hydrophilla*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sugianti (2005), yang menjelaskan gejala klinis yang timbul akibat infeksi bakteri *A. hydrophilla* ini antara lain ulcer yang berbentuk bulat/tidak teratur dan berwarna merah keabu-abuan. Nitimulyo *et al.*, (1993) menambahkan pula bahwa gejala klinis yang timbul akibat bakteri *A. hydrophilla* adalah haemorrhagi pada sirip dan eksophtalmia yaitu mata membengkak dan menonjol. Selain itu ciri-ciri lainnya adalah pendarahan pada tubuh, sisik terkuak, borok, nekrosis, busung, dan juga ikan lemas sering di permukaan atau dasar kolam.

Perubahan morfologi tubuh ikan lele dumbo yaitu kulit mengelupas, terdapatnya *haemorrhagic* di bagian tubuh, geripis pada sirip, kemudian disusul timbulnya luka yang dicirikan dengan munculnya radang dan berlanjut menjadi luka yang terbuka (*ulcer*). Infeksi *A. hydrophilla* menyebabkan proses pembengkakan dan *haemorrhagic* di antara jaringan epidermis dan dermis. Zona pembengkakan berwarna merah yang secara bertahap dapat meluas. Kerusakan jaringan terjadi dengan adanya pembentukan pusat *ulcer* pada permukaan tubuh, lebih sering menyerang pada sisi lambung (Austin dan Austin, 2007).

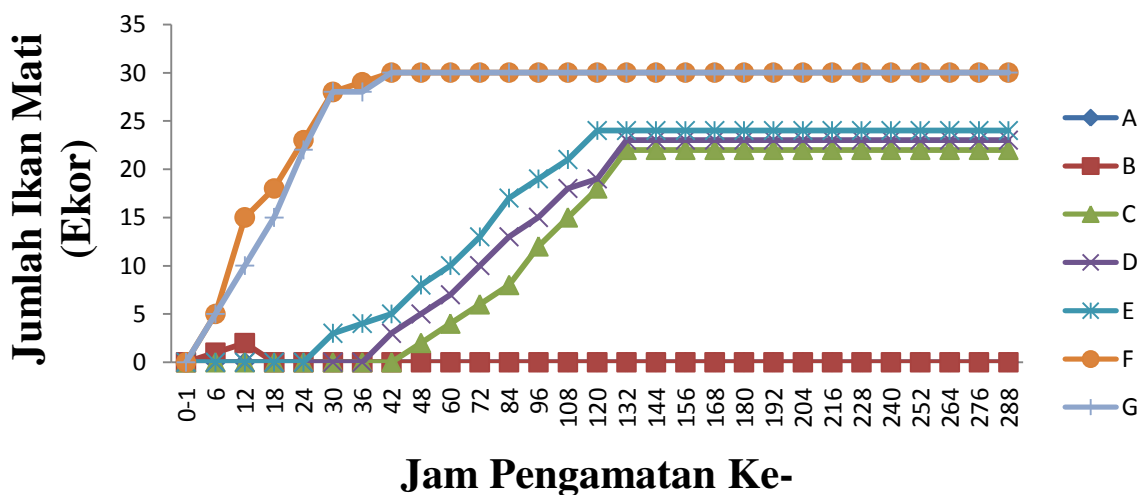
Pada semua perlakuan ikan lele dumbo yang diinfeksi bakteri tidak menimbulkan gejala klinis yang sama. Semakin tinggi konsentrasi bakteri yang digunakan maka semakin cepat pula gejala klinis yang ditimbulkan. Hal ini ditunjukkan pada ikan lele dumbo yang diinfeksi dengan konsentrasi  $10^8$  dan  $10^9$  CFU/ml menimbulkan gejala klinis yang lebih parah dibandingkan dengan konsentrasi  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$  CFU/ml. Perubahan tingkah laku dan morfologi tubuh ikan lele dumbo setelah diinfeksi bakteri *A. salmonicida* selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1.

Pengamatan waktu kematian ikan lele dumbo saat uji patogenesis dilakukan setiap 6 jam sekali selama 96 jam dan pengamatan 12 jam sekali dilakukan selama 12 hari. Perhitungan  $LD_{50}$  dilakukan selama 96 jam pasca infeksi Isolat bakteri K14. Data hasil pengamatan mortalitas ikan lele dumbo saat uji patogenesis dapat dilihat pada Gambar 2 dan data hasil perhitungan  $LD_{50}$  dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) Pada Saat Uji Patogenesis.

Keterangan: (a) berenang lemah di dasar air, (b) berenang vertikal, (c) sungut lepas, (d) kulit mengelupas, (e) sirip geripis, (f) *haemorrhagic*, (g) dan (h) *ulcer*



Gambar 2. Grafik Pola Kematian Kumulatif Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*).

Keterangan: Perlakuan A (PBS); B (kepadatan bakteri  $10^4$ ); C (kepadatan bakteri  $10^5$ ); D (kepadatan bakteri  $10^6$ ); E (kepadatan bakteri  $10^7$ ); F (kepadatan bakteri  $10^8$ ); dan G (kepadatan bakteri  $10^9$ ).





Uji LD<sub>50</sub> dilakukan untuk mengetahui kepadatan bakteri yang dapat membuat populasi ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) mati sebanyak 50% dalam waktu 96 jam. Hasil perhitungan LD<sub>50</sub> bakteri dengan kode Isolat K14 terhadap ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. LD<sub>50</sub> Bakteri dengan Kode Isolat K14 pada Ikan Lele Dumbo

Konsentrasi (CFU/ml)	Jumlah hewan uji	Jumlah kematian	Jumlah hidup	Akumulasi		Total hidup + mati	% Kematian	LD <sub>50</sub>
				Mati	Hidup			
10 <sup>0</sup>	30	0	30	0	81	81	0	4,977x10 <sup>5</sup>
10 <sup>4</sup>	30	0	30	0	51	51	0	
10 <sup>5</sup>	30	22	8	22	21	43	51,1627	
10 <sup>6</sup>	30	23	7	45	13	68	66,1764	
10 <sup>7</sup>	30	24	6	69	6	75	92	
10 <sup>8</sup>	30	30	0	99	0	99	100	
10 <sup>9</sup>	30	30	0	123	0	129	100	

Berdasarkan tabel 1, hasil uji LD<sub>50</sub> bakteri dengan kode Isolat K14 yang dapat mematikan populasi ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) sebanyak 50% dalam waktu 96 jam adalah bakteri dengan kepadatan 4,977x10<sup>5</sup> CFU/mL.

Uji patogenesitas ini meliputi pola kematian dan LD<sub>50</sub>. Kematian terjadi pada hari pertama pascainfeksi untuk perlakuan F dan G. Kematian terbanyak dialami seluruh perlakuan pada hari ke-2 dan ke-3, dan mulai berkurang pada hari ke-4 dan ke-5. Hal ini diduga puncak infeksi Isolat bakteri K14 terjadi setelah 24 jam pasca infeksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rey *et al.*, (2009), infeksi *A. hydrophilla* menimbulkan gejala klinis setelah beberapa jam setelah infeksi dan mulai muncul kematian setelah 7 jam pasca infeksi, selanjutnya akan menyebabkan kematian lebih banyak setelah 12-24 jam pasca infeksi.

Menurut Sarjito *et al.*, (2007), tingkat patogenesitas bakteri yang tinggi dapat menimbulkan kematian mencapai 100%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ikan lele dumbo yg diinfeksi dengan konsentrasi bakteri yang berbeda mengalami tingkat kematian yang sejalan dengan meningkatnya kepadatan bakteri, semakin tinggi konsentrasi bakteri yang diinfeksi semakin tinggi pula tingkat kematian pada lele dumbo.

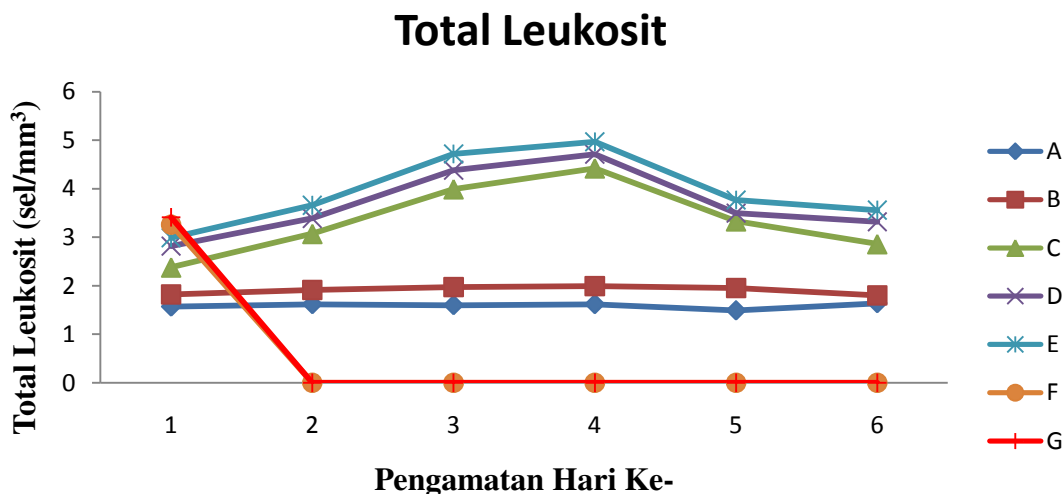
Hasil uji LD<sub>50</sub> pada penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri yang dapat mematikan 50% populasi ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dalam waktu 96 jam adalah 4,977x10<sup>5</sup> CFU/ml. Haliman (1993), mengklasifikasikan tingkat virulensi bakteri *Aeromonas* sp. berdasarkan nilai LD<sub>50</sub> bakteri tersebut, yaitu bakteri yang memiliki nilai LD<sub>50</sub> antara 10<sup>4.5</sup> – 10<sup>5.5</sup> cfu/ml tergolong dalam kelompok bakteri yang virulen, nilai LD<sub>50</sub> antara 10<sup>5.5</sup> – 10<sup>7</sup> cfu/ml tergolong dalam kelompok bakteri yang memiliki virulensi lemah dan bakteri yang memiliki nilai LD<sub>50</sub> lebih dari 10<sup>7</sup> cfu/ml merupakan bakteri yang avirulen. Sehingga bakteri *A. hydrophilla* yang digunakan dalam penelitian ini termasuk dalam kategori virulen.

Data hasil pengamatan leukosit total (sel/mm<sup>3</sup>) lele dumbo yang diinfeksi oleh bakteri dengan kode Isolat K14 dengan kepadatan bakteri yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Leukosit Total x 10<sup>4</sup> (sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Lele Dumbo

Perlakuan	Pengamatan Hari ke -					
	1	2	3	4	5	6
A	1,57	1,62	1,60	1,62	1,49	1,64
B	1,82	1,91	1,97	1,99	1,95	1,8
C	2,38	3,07	3,99	4,42	3,33	2,86
D	2,82	3,39	4,38	4,71	3,50	3,32
E	2,99	3,66	4,72	4,97	3,77	3,56
F	3,26	-	-	-	-	-
G	3,41	-	-	-	-	-

Keterangan: Perlakuan A (PBS); B (kepadatan bakteri 10<sup>4</sup>); C (kepadatan bakteri 10<sup>5</sup>); D (kepadatan bakteri 10<sup>6</sup>); E (kepadatan bakteri 10<sup>7</sup>); F (kepadatan bakteri 10<sup>8</sup>); dan G (kepadatan bakteri 10<sup>9</sup>).



Gambar 7. Grafik Leukosit Total (sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*).

Keterangan: Perlakuan A (PBS); B (kepadatan bakteri 10<sup>4</sup>); C (kepadatan bakteri 10<sup>5</sup>); D (kepadatan bakteri 10<sup>6</sup>); E (kepadatan bakteri 10<sup>7</sup>); F (kepadatan bakteri 10<sup>8</sup>); dan G (kepadatan bakteri 10<sup>9</sup>).

Hasil pengamatan leukosit menunjukkan jumlah leukosit total lele pada semua perlakuan setelah uji patogenisitas (Tabel 2). Jumlah leukosit total tertinggi setelah 24 jam penyuntikan *A. hydrophilla* pada perlakuan G adalah 3,41x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, disusul perlakuan F sebanyak 3,26x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan E sebanyak 2,99x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan D sebanyak 2,82x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan C sebanyak 2,38x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan B sebanyak 1,82 dan perlakuan A sebesar 1,57x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>. Marthen (2005) menyatakan jumlah sel darah putih pada ikan berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm<sup>3</sup>.

Jumlah leukosit total selama uji patogenisitas cenderung naik mulai hari pertama hingga hari ke-4 pasca infeksi bakteri *A. hydrophilla* (Gambar 7). Kenaikan ini berkaitan dengan pertahanan seluler yang meningkat karena adanya infeksi. Peningkatan dan aktivitas leukosit dapat disebabkan oleh infeksi yang memicu aktivitas pembelahan sel. Meningkatnya jumlah leukosit dapat dijadikan petunjuk fase pertama infeksi, stress maupun leukemia. Peningkatan jumlah leukosit disebabkan meningkatnya aktivitas pembelahan sel karena leukosit berperan mengeliminasi patogen yang masuk kedalam tubuh (Zou *et al.*, 2000). Hal ini menunjukkan tubuh lele dumbo melakukan respon dalam mempertahankan kekebalan tubuhnya dari serangan *A. hydrophilla*. Hal ini didukung oleh Arry (2007) yang menyatakan bahwa peningkatan jumlah total leukosit terjadi akibat adanya respon dari tubuh ikan terhadap kondisi lingkungan pemeliharaan yang buruk, faktor stres dan infeksi penyakit. Roberts dan Richards (1978) menambahkan sel-sel leukosit bergerak secara aktif melalui dinding kapiler untuk memasuki jaringan yang terkena infeksi. Lebih lanjut Gudkovs (1988) menyatakan bahwa karakteristik respon non-spesifik satu diantaranya ditandai dengan adanya migrasi dari leukosit ke dalam jaringan. Oleh karena itu jumlah sel darah putih pada ikan yang terserang penyakit lebih banyak dari pada ikan sehat.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

1. Berdasarkan gejala klinis yang diekspresikan Isolat K14 mencirikan infeksi *A. hydrophilla*, sedangkan bakteri dengan kode Isolat K14 memiliki patogenisitas terhadap ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dengan kepadatan bakteri 4.977x10<sup>5</sup> CFU/mL.
2. Rata-rata jumlah total leukosit tertinggi setelah 24 jam penyuntikan *Aeromonas sp.* adalah pada perlakuan G adalah 3,41±0,13 sel/mm<sup>3</sup>, disusul perlakuan F sebanyak 3,26±0,36 sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan E sebanyak 2,99±0,43 sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan D sebanyak 2,82±0,38 sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan C sebanyak 2,38±0,40 sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan B sebanyak 1,82±0,05 sel/mm<sup>3</sup> dan perlakuan A sebesar 1,57±0,26 sel/mm<sup>3</sup>.
3. Hasil identifikasi bakteri dengan kode Isolat K14 biomolekuler analisis 16S rDNA setelah dikonfirmasi dengan sistem BLAST didapatkan homogenitas Isolat bakteri K14 sebesar 96% dan menunjukkan bahwa Isolat K14 tersebut berdekatan dengan *Aeromonas sp.*

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, perlu penelitian lebih lanjut mengenai gambaran darah dan histopatologi lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diinfeksi menggunakan bakteri *Aeromonas sp.*



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan sebagian dari penelitian yang di lakukan oleh Dr. Ir. Sarjito MAppSc, dkk, penulis mengucapkan terima kasih kepada UPT Lab Terpadu, Lab Program Studi Budidaya Perairan, Abung Maruli S.Pi, dan Triyaningsih yang telah membantu jalanya penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R. dan U.M. Tang. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press, Riau. 217 hlm.
- Arry. 2007. Pengaruh Suplementasi Zat Besi (Fe) dalam Pakan Buatan Terhadap Kinerja Pertumbuhan dan Imunitas Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes Altivelis*. [Sk] Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 78 hlm.
- Austin B. dan D.A. Austin. 2007. Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish. Fourth edition. Ellis Horwood limited. Chichester: England. 235-300pp.
- Cipriano, R.C., and G.L. Bullock. 2001. Furunculosis and Other Disease Cause by *Aeromonas salmonicida*. U.S. Geological Survey/Leetown Science Center National Fish Health Research Laboratory, 1700 Leetown Road, Kearneysville, West Virginia 25430pp.
- Gudkovs, N. 1988. Fish Immunology. Fish Disease Refresher Course for Veterinarians. Proc. 106: 531-54pp.
- Hadi, S. 1986. Metodology Research. Yayasan Penerbit Fakultas Psikologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 395 hlm.
- Haliman, R.W. 1993. Gejala Klinis dan Gambaran Darah Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp*) Dewasa yang Disuntik dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila* (Sel Utuh) Galur Virulen Lemah Secara Intramuskular.[Sk]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Kementrian Perikanan dan Kelautan. 2013. Statistik Menakar Target Ikan Air Tawar Tahun 2013. <http://www.djpb.kkp.go.id/berita.php?id=874> (12 April 2013).
- Marthen, D.P. 2005. Gambaran Darah Ikan Nila *Oreochromis sp.* yang Diberi Pakan Lemak Patin sebagai Sumber Lemak dalam Pakan. [Sk] Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Nitimulyo, H, Triyanto, S. dan Kamiso, H.N. 1993. Vaksinasi Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Fakultas Pertanian. Universitas Gajah Mada. 72hlm.
- Rey, A., N. Verjan, H. W. Ferguson, and C. Iregui. 2009. Patogenesis of *Aeromonas hydrophila* Strainn KJ99 Infection and Its Extracellular Product in Two Species of Fish. Veterinary Record (2009) 164,pp. 493-499.
- Roberts, R.J. and R.H. Richards. 1978. The Bacteriology of Teolost in Fish Pathology. Roberts RJ,editor. Bailliere Tindal Book Publ, London. 205-318pp.
- Sarjito. O.K. Radjasa, S. Hutabarat, dan S.B. Prayitno, 2007. Casuative Agent Vibriosis pada Kerapu Bebek (*Cromileptes Altivelis*) dari Karimunjawa I. Patogenesitas pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Ilmu Kelautan, 12(3): 173-180.
- . 2010. Aplikasi Biomolekuler untuk Deteksi Agensia Penyebab *Vibriosis* pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti *Vibriosis*. [Dis]. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Srigandono, B. 1981. Rancangan Percobaan. Universitas Diponegoro, Semarang, 140hlm.
- Sugianti, B. 2005. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional dalam Pengendalian Penyakit. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Zou, J., J. Holland, O. Pleguezuelos, C. Cunningham, and C.J. Secombes, 2000. Factors Influencing the Expression of Interleukin-1 $\beta$  in Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Leukocytes. *Dev Comp Immun*, 24: 575–582.